

На правах рукописи

ТИМОФЕЕВА

Екатерина Михайловна

**КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ОЦЕНКА АРОМАТАЗНОЙ
АКТИВНОСТИ ЯИЧНИКОВ ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО
ВОЗРАСТА**

14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2015

Работа выполнена в ФГБУ «Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта» СЗО РАМН

Научные руководители:

заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук, профессор

Потин Владимир Всеволодович

доктор медицинских наук

Ярмолинская Мария Игоревна

Официальные оппоненты:

Пастушенков Владимир Леонидович

доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства России», заместитель главного врача по лабораторной диагностике

Козлов Виктор Константинович

доктор медицинских наук, профессор, ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра клинической лабораторной диагностики, профессор

Ведущая организация: ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «16» апреля 2015 г. в 15-00 часов на заседании диссертационного совета Д 205.001.01 при ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 4/2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 197374, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, д. 54 и на сайте <http://www.arcerm.spb.ru>.

Автореферат разослан «___» _____ 2015 г.

Учёный секретарь диссертационного совета
кандидат медицинских наук

Санников М.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Нормогонадотропная недостаточность яичников – наиболее частая причина гормонального бесплодия. Распространена точка зрения, согласно которой нормогонадотропная ановуляция является следствием центральных регуляторных нарушений [Дедов И.И., 2000; Гивенс Д., 1995]. Однако еще в 90-х годах прошлого века было установлено, что у значительной части больных с нормогонадотропной ановуляцией механизм положительной обратной связи между яичниками и гипофизом интактен [Айламазян Э.К., 1994; Потин В.В., 1990]. Эти данные указывают на роль первично-овариальных факторов в развитии нормогонадотропной недостаточности яичников. К ним следует отнести хронический аднексит, аутоиммунное поражение яичников или повреждение ферментативной системы, ответственной за синтез эстрогенов доминантным фолликулом. Ключевым ферментом в конверсии андрогенов в эстрогены является ароматаза.

Ароматаза – уникальный ферментный комплекс, который необходим в организме для завершения синтеза эстрогенов гранулезными клетками яичников. Ароматазная активность в яичниках проявляется в антральных фолликулах 5 класса, когда начинается третья стадия фолликулогенеза – селекция и созревание доминантного фолликула. В эту стадию фолликулы достигают размеров 2 мм и более в диаметре, и их рост полностью становится зависимым от фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), который стимулирует ароматазу через аденилатциклазную систему [Erickson G., 2001].

Активность ароматазы определяется также в других тканях и органах, участвующих в периферической продукции эстрогенов, таких как жировая ткань, фибробласты кожи, печень, строма и паренхима молочных желез, эндометрий, плацента, мышечная и костная ткань и др. [Matsumine H., 1986; Hall P.F., 1987; Simpson E.R., 1987; Zouboulis C.C. 2004; Merlotti D., 2011]. Следовательно, имеются достаточные основания полагать, что реакция ароматизации является одним из существенных механизмов поддержания эстроген-андрогенового баланса в соответствующих органах и может влиять на формирование как эстрогендефицитных состояний при ановуляции, так и локального избытка эстрогенов в соответствующих органах-мишенях.

Частичный дефицит ароматазы может являться одной из причин нормогонадотропной недостаточности яичников. С другой стороны, существует большая группа так называемых эстрогензависимых заболеваний (эндометриоз, миома матки, рак тела матки, рак молочной железы), развитие которых связано с гиперпродукцией эстрогенов. Антиэстрогены, в частности ингибиторы ароматазы, используют как для индукции овуляции при нормогонадотропной ановуляции [Морчиладзе А.З., 2011], так и в комплексной

терапии эстрогензависимых заболеваний, например, эндометриоза [Ярмолинская М.И., 2013]. Информация об эндогенной овариальной активности может быть крайне важной при лечебном использовании ингибиторов ароматазы при этих формах патологии. На сегодняшний день клиническая лабораторная диагностика не имеет в своем арсенале доступных методов определения ароматазной активности яичников.

В настоящее время активность ароматазы в различных тканях определяют радиометрическим методом, основанным на превращении меченого тритием андростендиона в «тяжелую воду» ($^3\text{H-H}_2\text{O}$) [Thompson E.A., 1974; Tilson-Mallett N., 1983; Ларионов А.А., 1997] и меченый тритием эстрон [Longcope C., 1967; MacDonald P.C., 1967; Hemsell D.L., 1974]. Существует также косвенный метод определения активности ароматазы по соотношению эстрогенов к андрогенам в сыворотке крови [Мишарина Е.В., 1993]. Экспрессию ароматазы в тканях можно определить с помощью иммуногистохимического анализа [Sternberger L.F., 1970; Савина В.А., 2012]. Мутации гена, кодирующего ароматазу (*CYP 19*), определяют методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим секвенированием [Mullis P.E., 1997; Lin L., 2007]. Практически отсутствуют методы определения ароматазной активности неинвазивными методами. Поиск неинвазивных методов определения активности ароматазы остается одним из перспективных направлений эндокринологии репродукции и клинико-лабораторной диагностики.

Степень разработанности темы. На сегодняшний день доказана важнейшая роль интракринного эффекта эстрогенов, который заключается в биологическом ответе на гормон в том же органе или ткани, где он образуется [URL: http://gyn-endo.ru/?page_id=461. – (дата обращения 27.05.2014)]. Этот механизм играет роль в патогенезе эстрогензависимых заболеваний. Определена и доминирующая роль ароматазы в конверсии андрогенов в эстрогены [Payne A.H., 2004]. Существующие в настоящее время косвенные и инвазивные методы определения ароматазной активности не дают информации о ее количественной оценке. Определение экспрессии ароматазы, приходящейся на одну клетку гранулезы антрального фолликула яичников, с помощью иммуногистохимического метода обладает невысокой воспроизводимостью результатов [Савина В.А., 2012].

Цель исследования: изучить реакцию половых стероидных гормонов и гонадотропинов на прием ингибитора ароматазы летрозолола для разработки метода определения активности овариальной ароматазы при различных формах недостаточности яичников.

Задачи исследования:

1. Определить реакцию эстрадиола и эстрона в сыворотке крови в ответ на пероральный прием 10 мг ингибитора ароматазы летрозолола.
2. Оценить изменения андрогенов (общего тестостерона, свободного тестостерона, андростендиона), 17-гидроксипрогестерона и индекса свободных андрогенов в сыворотке крови на прием 10 мг летрозолола.
3. Выяснить реакцию фолликулостимулирующего гормона, лютеинизирующего гормона и пролактина в сыворотке крови в ответ на прием летрозолола.
4. Оценить изменения половых стероидных гормонов и гонадотропинов в сыворотке крови в ответ на прием летрозолола у женщин с наружным генитальным эндометриозом на фоне применения агониста гонадотропин-рилизинг гормона (аГРГ) и женщин с первичной овариальной недостаточностью.
5. Разработать метод определения ароматазной активности антральных фолликулов яичников.
6. Оценить вариабельность ароматазной активности яичников женщин с нормогонадотропной овариальной недостаточностью, обусловленной эндометриозом и синдромом поликистозных яичников.

Научная новизна исследования

Впервые охарактеризованы критерии, позволяющие на основании определения иммуноферментным методом в сыворотке крови половых стероидных гормонов и гонадотропинов в ответ на прием 10 мг ингибитора ароматазы – летрозолола оценить ароматазную активность.

Разработан способ определения активности общей овариальной ароматазы и ароматазной активности антральных фолликулов яичников (Заявка на патент № 2013147216 от 22.10.2013 г., решение о выдаче патента на изобретение Ф. № 01ИЗ – 2013 от 05. 12. 2014г.).

Определены границы референтного интервала овариальной ароматазной активности у женщин репродуктивного возраста.

Теоретическая и практическая значимость

Разработанный тест с ингибитором ароматазы летрозололом позволяет определять общую ароматазную активность яичников и ароматазную активность овариальных фолликулов для изучения роли ароматазы в патогенезе различных форм ановуляторного бесплодия и эстрогензависимых заболеваний. Метод может быть внедрен для лабораторной оценки овариальной ароматазной активности при различной гинекологической патологии. Результаты предложенного теста могут быть использованы для оптимизации терапии указанных заболеваний.

Методология и методы исследования. Для реализации цели исследования были использованы иммуноферментные методы. Проведена проба с летрозолом, УЗИ органов малого таза, статистический анализ результатов исследования.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Пероральный прием 10 мг ингибитора ароматазы летрозола вызывает у здоровых женщин достоверное снижение эстрадиола и эстрона в сыворотке крови. Максимальное снижение эстрогенов приходится на 48 часов после приема препарата и составляет для эстрадиола 30%, для эстрона 17,4%. Отношение реакции эстрадиола на летрозол к уровню антимюллерова гормона в сыворотке крови ($\Delta E_2/AMG$) отражает ароматазную активность антральных фолликулов.

2. Изменение уровня эстрадиола после приема летрозола отражает активность овариальной ароматазы, так как у больных эндометриозом на фоне применения аГРГ и у больных с первичной недостаточностью яичников, реакция на ингибитор ароматазы практически отсутствует.

3. Ароматазная активность антральных фолликулов при нормогонадотропной ановуляции, обусловленной наружным генитальным эндометриозом и синдромом поликистозных яичников, находится в широких пределах. Определение ароматазной активности антральных фолликулов может являться основанием для выбора патогенетически обоснованной терапии, например, ингибиторов ароматазы у больных наружным генитальным эндометриозом и синдромом поликистозных яичников.

Степень достоверности и апробация результатов исследования. Достоверность полученных результатов подтверждается достаточным объемом материала, использованием современных методов исследования и оборудования, а также адекватных методов статистической обработки результатов.

Материалы диссертационной работы представлены на VIII междисциплинарной конференции по акушерству, перинатологии, неонатологии «Здоровая женщина – здоровый новорожденный», (Санкт-Петербург, 2013), IV ежегодной научной конференции молодых ученых и специалистов «Репродуктивная медицина: взгляд молодых», (Санкт-Петербург, 2013), LXXV научно-практической конференции «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины», (Санкт-Петербург, 2014), VI Российско-Германском конгрессе по акушерству и гинекологии «Современные технологии акушерства и гинекологии в решении проблем демографической безопасности», (Калининград, 2014), VII региональном научном форуме «Мать

и дитя» и Пленуме Российского общества акушеров-гинекологов, (Геленджик, 2014).

Разработанный метод определения активности ароматазы внедрен в диагностическую работу отделения гинекологической эндокринологии, лаборатории эндокринологии и научно-консультативного отделения ФГБУ «НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта» СЗО РАМН.

По теме диссертации опубликовано 10 научных работ, 4 из которых в изданиях, определенных перечнем рецензируемых российских научных журналов для опубликования основных научных результатов диссертации.

Личный вклад автора в исследование. Автором самостоятельно выполнены иммуноферментные исследования, проведен анализ полученных результатов. Совместно со специалистами отдела эндокринологии репродукции ФГБУ «НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта» СЗО РАМН автор принимал участие в клиническом обследовании больных. В ходе выполнения работы проведен аналитический обзор современной отечественной и зарубежной литературы. Автором самостоятельно проведена статистическая обработка и анализ полученных результатов, сформулированы выводы.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 102 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа иллюстрирована 12 таблицами и 26 рисунками. Указатель литературы содержит 149 наименований, из которых 30 отечественные и 119 зарубежные.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на базе лаборатории эндокринологии ФГБУ «НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта» СЗО РАМН. Обследование женщин проводилось при их информированном согласии, с соблюдением этических норм в соответствии с требованиями Независимого локального этического комитета при ФГБУ «НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта» СЗО РАМН.

Обследовано 85 женщин репродуктивного возраста. Из них 10 женщинам проведено гормональное обследование, 75 женщинам проведена проба с летрозолом.

Для решения поставленных в диссертационной работе задач были сформированы и проанализированы следующие группы женщин:

1. Для сравнения реакции половых стероидных гормонов и гонадотропинов в ответ на прием ингибитора ароматазы летрозолола была сформирована группа из 10 женщин, не принимавших летрозол. Средний возраст составил $27,3 \pm 6,0$ лет. Индекс массы тела в среднем был равен $21,9 \pm 1,2$ кг/м², у двух женщин наблюдался умеренный дефицит массы тела ($16,8$ кг/м² и $15,7$ кг/м²).

2. Реакция на летрозол изучена у 15 здоровых женщин в возрасте от 23 лет до 31 года (средний возраст составил $27,0 \pm 2,7$ лет) с полноценным овуляторным менструальным циклом (средний уровень прогестерона на 22 день менструального цикла был равен $44,3 \pm 6,0$ нмоль/л). Индекс массы тела в среднем составил $21,1 \pm 0,5$ кг/м², у одной женщины имелся умеренный дефицит массы тела ($17,6$ кг/м²). Исходные уровни гонадотропинов в сыворотке крови находились в пределах референтного интервала.

Критерии исключения: В исследование не включались женщины, принимающие гормональные контрацептивы, получающие заместительную гормональную терапию половыми стероидами, а также лица с гинекологической патологией, наличием гирсутизма, угревой болезни и тяжелой соматической патологией (онкологические заболевания, тромботические осложнения в анамнезе, сахарный диабет, ревматологические заболевания, декомпенсированные заболевания печени и почек).

3. Обследованы 10 женщин с верифицированным лапароскопически и подтвержденным гистологически наружным генитальным эндометриозом (НГЭ) на фоне применения агониста гонадотропин-рилизинг гормона (аГРГ) – трипторелина ацетата в возрасте от 27 до 33 лет (средний возраст составил $29,6 \pm 2,1$ лет), средний индекс массы тела – $21,9 \pm 0,6$ кг/м².

4. Обследована группа из 5 женщин с первичной овариальной недостаточностью, средний возраст которых составил $29,6 \pm 2,1$ лет, индекс массы тела в среднем был равен $22,7 \pm 1,6$ кг/м², у одной женщины отмечена избыточная масса тела ($27,3$ кг/м²).

5. Обследованы женщины с нормогонадотропной ановуляцией, обусловленной НГЭ (21), установленным на основании лапароскопии и подтвержденным результатами гистологического исследования. Средний возраст больных составил $29,8 \pm 3,5$ лет, индекс массы тела в среднем был равен $21,1 \pm 0,7$ кг/м². У двух женщин имелся умеренный дефицит массы тела ($17,2$ кг/м² и $15,3$ кг/м²). У одной женщины отмечена избыточная масса тела (32 кг/м²).

6. Обследованы 24 женщины с нормогонадотропной ановуляцией, обусловленной синдромом поликистозных яичников (СПЯ). Средний возраст больных составил $25,6 \pm 2,9$ лет, индекс массы тела в среднем был равен $24,0 \pm 1,1$ кг/м². У 7 женщин отмечена избыточная масса тела.

Обследованные больные находились под наблюдением специалистов ФГБУ «НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта» СЗО РАМН. Диагноз НГЭ был установлен интраоперационно и подтвержден результатами гистологического исследования. Диагноз «первичная овариальная недостаточность» устанавливался по наличию гипергонадотропной аменореи и данных анамнеза (двухсторонняя овариоэктомия в прошлом). Диагноз СПЯ ставился на основании клинических проявлений (нарушение менструального цикла, эстрогензависимая дермопатия (гирсутизм, угревая сыпь)), гормональных нарушений (гиперпродукция лютеинизирующего гормона гипофизом и андрогенов яичниками) и результатов ультразвукового исследования яичников (увеличение объема, утолщение капсулы, наличие в них большого количества мелких антральных фолликулов).

Для определения гормонов в сыворотке крови использовали иммуноферментный анализ (ИФА). Объектом исследования служили образцы сыворотки крови. Уровень ФСГ, лютеинизирующего гормона (ЛГ), пролактина, общего тестостерона, дегидроэпиандростерона-сульфата (ДГЭА-сульфат), прогестерона, 17-гидроксипрогестерона (17-ОНР) и стероидсвязывающего глобулина (ССГ) определяли с помощью тест-систем фирмы «Алкор Био» (Россия). Содержание андростендиона, свободного тестостерона, эстрадиола (Э₂) и эстрона (Э₁) определяли с помощью коммерческих тест-систем фирмы «DRG Diagnostics» (Германия). Уровень антимюллерова гормона (АМГ) в крови определяли с помощью тест-систем фирмы «Beckman coulter» (США).

Для определения *пролактина, ФСГ и ЛГ* использовался «сендвич»-вариант твердофазного ИФА. Для реализации этого варианта использовались два моноклональных антитела с различной эпитопной специфичностью к определяемому гормону. Одно из них иммобилизовано на твердой фазе (внутренняя поверхность лунок планшета), второе конъюгировано с пероксидазой хрена (конъюгат). Процедура исследования проводилась на автоматическом анализаторе «Alisei» (Италия).

Определение *ССГ* проводилось вручную по аналогичной методике с одинаковой последовательностью.

Для определения *общего тестостерона, ДГЭА-сульфата, прогестерона и 17-ОНР* использовался вариант конкурентного твердофазного ИФА. В этой методике использовались два антигена, одним из них являлся определяемый гормон, а второй конъюгирован с пероксидазой хрена (конъюгат), которые конкурировали между собой за связывание с антителами, иммобилизованными на твердой фазе. Процедура исследования проводилась на автоматическом анализаторе «Alisei» (Италия).

Определение *эстрадиола, эстрогена, свободного тестостерона и андростендиона* проводилось вручную с использованием варианта конкурентного твердофазного ИФА.

Определение *АМГ* проводилось вручную с использованием принципа ферментно-усиленного двухступенчатого «сендвич»-варианта твердофазного ИФА.

Для обеспечения внутреннего контроля качества лабораторных исследований использовали контрольные образцы в нормальном и патологическом диапазоне, входящие в состав наборов, а также коммерческие контрольные материалы «Liphochek immunoassay Plus Control» BIO-RAD (Франция).

Пробу с летрозолом проводили на 2-й день менструального цикла. Учитывая безопасность применения, обратимость действия, короткий период полу-жизни для ингибирования ароматазы нами был выбран ингибитор ароматазы III поколения – летрозол. Взятие крови для анализа в количестве 10 мл осуществляли на 2 день менструального цикла из локтевой вены в 9 часов утра в Vacuette «Greiner Bio-One» (Австрия) с активатором свертывания (SiO – оксид кремния) для ускорения образования сгустка крови. Сыворотку крови получали по общепринятой методике: Vacuette с кровью центрифугировали 10 минут при 3000 оборотов/мин при комнатной температуре с использованием центрифуги Z 300 Hermle Labortechnik (Германия). Затем сыворотку аликвотировали по 0,5 мл в одноразовые пробирки типа «Эппендорф» и хранили при температуре – 20°C до проведения исследования.

Далее обследуемая принимала 10 мг ингибитора ароматазы летрозола перорально. Однократная доза 10 мг была выбрана на основании данных литературы и результатов предыдущих исследований, показавших антиэстрогенный эффект, отсутствие побочных действий, а также хорошую переносимость [Морчиладзе А.З., 2011]. Через 24, 48 и 72 часа проводилось повторное взятие крови. Во всех образцах крови определяли уровень ФСГ, ЛГ, пролактина, общего и свободного тестостерона, андростендиона, Э₂, Э₁, 17-ОНР, ДГЭА-сульфата, АМГ, ССГ. Также рассчитывали индекс свободных андрогенов (ИСА).

Активность общей овариальной ароматазы определяется снижением уровня эстрадиола в сыворотке крови на фоне приема летрозола (Δ Э₂), а активность ароматазы антральных фолликулов рассчитывается по формуле (Δ Э₂/АМГ), таким образом аналитические характеристики метода определения ароматазной активности обусловлены аналитическими характеристиками тест-систем для иммуноферментного анализа определяемых аналитов (Э₂ и АМГ) в сыворотке крови.

Воспроизводимость. Коэффициент вариации результатов определения содержания эстрадиола в одном и том же образце контрольной сыворотки с известным содержанием эстрадиола не превышает 8%. Коэффициент вариации результатов определения содержания АМГ не превышает 7,7%.

Специфичность. Перекрестная реакция поликлональных антител к эстрадиолу с эстриолом – 0,05%, эстроном – 0,2%. С другими стероидными гормонами перекрестной реакции не обнаружено. Высокоспецифичные моноклональные антитела к АМГ не выявляют ингибин А, активин А, ФСГ и ЛГ при их физиологических концентрациях.

Чувствительность метода определения ароматазной активности яичников. Минимальная определяемая общая ароматазная активность яичников здоровых женщин составляет 1,4 пмоль/л. Минимальная определяемая ароматазная активность антральных фолликулов – 0,5.

Для подтверждения наличия полноценного овуляторного цикла использовали данные ультразвукового исследования органов малого таза, которое проводилось на аппарате SonoAce X4 (Южная Корея) с использованием вагинального датчика с частотой 5,0 МГц. При ультразвуковом исследовании у всех женщин были определены: объем яичников, количество, размеры и расположение антральных фолликулов, наличие доминантного фолликула и желтого тела.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с применением стандартных пакетов программ прикладного статистического анализа (Statistica for Windows v. 7.0, Microsoft Excel). Для проверки согласия с нормальным типом распределения использовали критерии Шапиро-Уилка и Лиллиефорса. Выявленные отклонения от нормального распределения обусловили необходимость использования непараметрических методов статистики. Для определения различий в группе использовали ранговый критерий Вилкоксона. При сравнении нескольких групп проводилось сравнение средних рангов для всех групп. Анализ зависимости и силу связей между признаками оценивали по величине непараметрического коэффициента корреляции – r_s -критерия Спирмена: более 0,7 – сильная, от 0,3 до 0,7 – умеренная, менее 0,3 – слабая. Направленность связей оценивали по знаку коэффициента корреляции. Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы принимали равным 0,05. Учитывая то, что диссертационная работа посвящена разработке метода определения овариальной ароматазной активности с установлением границ референтного интервала, результаты исследования представлены в виде медианы показателя и процентилей [10; 90].

Результаты исследования

Результаты гормонального обследования здоровых женщин, не получавших ингибитор ароматазы летрозол

Как известно, содержание половых стероидных гормонов и гонадотропинов изменяется в течение физиологического менструального цикла. Для достоверности проведенной пробы с летрозолом важно оценить динамику содержания эстрадиола и гонадотропинов у здоровых женщин в естественных условиях.

У здоровых женщин, которые не принимали летрозол, не выявлено достоверных отличий между содержанием в сыворотке крови эстрадиола и гонадотропинов на 2 день и 4 день менструального цикла (таблица 1). Из данных представленных в таблице 1 видно, что содержание эстрадиола и гонадотропинов в сыворотке крови здоровых женщин в начале менструального цикла (до инициации доминантного фолликула) изменяется незначительно, что имеет существенное значение для интерпретации результатов пробы с летрозолом.

Таблица 1. Уровень эстрадиола и гонадотропинов в сыворотке крови здоровых женщин на 2 и 4 день менструального цикла (Медиана [10; 90])

Гормон	2 день менструального цикла	4 день менструального цикла
Эстрадиол, пмоль/л	172,4 [146,3; 220,8]	171,8 [141,0; 254,1]
ФСГ, МЕ/л	6,2 [4,1; 8,6]	6,3 [5,1; 9,8]
ЛГ, МЕ/л	3,5 [1,9; 4,9]	3,3 [2,1; 6,6]

Результаты пробы с летрозолом у здоровых женщин

Проба с летрозолом проведена 15 здоровым женщинам. Пробу проводили на 2-й день менструального цикла. Содержание гонадотропинов и половых стероидных гормонов в сыворотке крови определяли до приема летрозола и через 24, 48 и 72 часа после приема препарата.

Реакция половых стероидных гормонов на летрозол

Данные об изменении уровня половых стероидных гормонов в сыворотке крови здоровых женщин до приема 10 мг ингибитора ароматазы летрозола и через 24, 48 и 72 часа представлены в таблице 2.

Таблица 2. Уровень половых стероидных гормонов в сыворотке крови здоровых женщин до и через 24, 48 и 72 часа после приема летрозолола (Медиана [10; 90])

Гормон	Уровень гормонов в сыворотке крови			
	до приема летрозолола	через 24 часа	через 48 часов	через 72 часа
Эстрадиол, пмоль/л	132,8 [113,4; 193,0]	100,8*** [80,9; 121,1]	98,0*** [81,1; 118,4]	120,2** [91,0; 134,3]
Эстрон, пмоль/л	211,8 [145,8; 362,4]	205,9 [147,3; 338,3]	199,3** [113,7; 299,2]	194,7 [110,1; 364,5]
Тестостерон, нмоль/л	1,7 [0,9; 2,6]	2,1 [0,8; 2,6]	1,9 [0,7; 2,7]	2,0 [1,0; 2,6]
Свободный тестостерон, пмоль/л	5,0 [1,8; 11,8]	5,7 [1,7; 12,8]	5,1 [1,6; 13,5]	5,0 [1,4; 14,9]
Андростендион, нмоль/л	6,1 [4,0; 11,6]	6,1 [4,0; 10,9]	7,9 [4,1; 13,8]	7,4 [4,1; 9,8]
17 -ОНР, нмоль/л	1,9 [1,0; 2,3]	2,0 [1,2; 2,9]	2,7** [1,6; 3,2]	2,0* [1,6; 3,7]
ДГЭА-сульфат, мкмоль/л	5,6 [3,7; 9,2]	6,4 [3,9; 8,4]	5,8 [3,6; 8,3]	5,6 [3,5; 8,5]

Примечание: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ по сравнению с аналогичным показателем до приема летрозолола.

При проведении сравнительного анализа было установлено, что через 24 часа после приема летрозолола отмечено снижение эстрадиола на 30% ($p < 0,001$), через 48 часов медиана данного показателя также составила 30% ($p < 0,001$). Через 72 часа произошло повышение содержания эстрадиола в сыворотке крови до 120,2 [91,0; 134,3] пмоль/л ($p < 0,01$), по сравнению с его уровнем через 24 и 48 часов. Однако по сравнению с исходным уровнем эстрадиола до приема ингибитора ароматазы отмечено снижение на 17% (таблица 2).

Снижение уровня эстрона в сыворотке крови через 24 часа после приема препарата составило 7%. Через 48 часов выявлено его достоверное снижение на 17% ($p < 0,01$). Через 72 часа после приема летрозолола содержание эстрона в сыворотке крови снизилось на 6% по сравнению с его исходным уровнем (таблица 2).

Незначительное повышение уровня 17-ОНР в сыворотке крови (13%) отмечено через 24 часа после приема летрозолола. Через 48 и 72 часа после приема препарата содержание 17-ОНР в сыворотке крови здоровых женщин достоверно повысилось на 30% ($p < 0,01$) и 32% ($p < 0,05$) соответственно, по сравнению с его исходным уровнем (таблица 2).

Повышение андрогенов (андростендиона, общего и свободного тестостерона) в сыворотке крови здоровых женщин в ответ на пероральный

прием 10 мг ингибитора ароматазы летрозолола не было статистически достоверным (таблица 2). Несмотря на повышение уровня свободного тестостерона на 14% через 48 часов после приема летрозолола, этот показатель также не был статистически достоверным. Повышение содержания андростендиона в сыворотке крови в ответ на прием летрозолола через 48 часов составило 3% (таблица 2). Исходное содержание ДГЭА-сульфата в сыворотке крови здоровых женщин составляло 5,6 [3,7; 9,2] мкмоль/л, однако после приема летрозолола через 24, 48 и 72 часа достоверных изменений отмечено не было (таблица 2).

Для выбора наиболее информативных показателей при проведении пробы с летрозололом был проведен анализ изменений между содержанием гормонов в сыворотке крови здоровых женщин до приема препарата, через 24, 48 и 72 часа (таблица 3).

Таблица 3. Изменение гормональных показателей (Δ) в сыворотке крови здоровых женщин до и через 24, 48 и 72 часа после приема летрозолола (Медиана [10; 90])

Гормон	Изменение гормональных показателей в сыворотке крови (Δ)		
	до приема и через 24 часа	до приема и через 48 часов	до приема и через 72 часа
Эстрадиол, пмоль/л	-35,0 [14,2; 88,4]	-40,4 [4,9; 86,2]	-22,4** [-2,2; 57,7]
Эстрон, пмоль/л	-12,2 [-26,1; 48,1]	-32,1* [-27,6; 86,3]	-10,4 [-72,1; 39,1]
Тестостерон, нмоль/л	0,2 [-0,5; 0,9]	0,3 [-0,6; 0,9]	0,4 [-0,4; 1,0]
Свободный тестостерон, пмоль/л	0,1 [-1,7; 1,8]	1,1 [-2,8; 2,2]	0,7 [-3,4; 2,4]
Андростендион, нмоль/л	0,2 [-1,6; 1,0]	0,2 [-1,3; 5,3]	0,0 [-1,9; 1,8]
17-ОНР, нмоль/л	0,2 [-0,3; 0,8]	0,6* [-0,3; 1,6]	0,5 [-0,2; 2,0]
ДГЭА-сульфат, мкмоль/л	0,1 [-1,2; 0,9]	0,1 [-2,0; 1,0]	0,0 [-0,6; 0,9]

Примечание: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ по сравнению с аналогичным показателем через 24 часа после приема летрозолола.

Из данных, представленных в таблице 3, видно, что наибольшее снижение уровня эстрадиола произошло через 48 часов и составило 40,4 [4,9; 86,2] пмоль/л. Границы референтного интервала составляют: нижний предел – 4,9 пмоль/л, верхний предел – 86,2 пмоль/л.

Максимальное снижение содержания эстрогена в сыворотке крови также отмечено через 48 часов после приема препарата и составило 32,1[-27,6; 86,3] пмоль/л ($p < 0,05$) (таблица 3).

Коэффициент корреляции между уровнем эстрадиола до приема ингибитора ароматазы летрозолола и через 48 часов составил $r_s=0,5$. Аналогичный показатель для эстрогена составил $r_s=0,9$. Эти данные указывают на то, что базальный уровень эстрогенов в сыворотке крови здоровых женщин в начале менструального цикла (до инициации доминантного фолликула) находится в прямой зависимости от ароматазной активности яичников.

Достоверное повышение ($p < 0,05$) уровня 17-ОНР после применения ингибитора ароматазы летрозолола отмечено через 48 часов (0,6 [-0,3; 1,6] нмоль/л). Достоверных изменений между содержанием общего тестостерона, свободного тестостерона, андростендиона и ДГЭА-сульфата до приема препарата и через 24, 48 и 72 часа не выявлено (таблица 3).

При проведении сравнительного анализа значений коэффициентов \mathcal{E}_2 /свободный тестостерон и \mathcal{E}_1 /андростендион было отмечено их достоверное снижение после приема летрозолола (таблица 4).

Таблица 4. Изменение значений коэффициентов \mathcal{E}_2 /свободный тестостерон и \mathcal{E}_1 /андростендион у здоровых женщин до и через 24, 48 и 72 часа после приема летрозолола (Медиана [10; 90])

Наименование коэффициента	Значение коэффициентов			
	до приема летрозолола	через 24 часа	через 48 часов	через 72 часа
\mathcal{E}_2 /свободный тестостерон	31,2 [9,1; 73,8]	21,4* [7,0; 70,6]	19,3* [7,8; 81,5]	24,2 [7,0; 92,9]
\mathcal{E}_1 /андростендион	31,7 [14,3; 81,7]	34,8 [16,4; 73,2]	21,7* [10,4; 69,6]	33,8 [13,1; 69,6]

* – достоверные различия при $p < 0,05$ по сравнению со значением коэффициента до приема летрозолола.

Через 24 часа после приема препарата значение коэффициента \mathcal{E}_2 /свободный тестостерон достоверно снизилось на 5,2 [0,0; 33,5], через 48 часов изменение по сравнению с исходным значением было равным 10,2 [-3,4; 32,7] ($p < 0,05$). Через 72 часа была отмечена тенденция к повышению значения коэффициента \mathcal{E}_2 /свободный тестостерон ($p = 0,08$) и уменьшение разницы по сравнению с исходным значением до 4,8 [-12,9; 29,3].

Значение коэффициента \mathcal{E}_1 /андростендион через 24 часа после приема летрозолола снизилось на 3,6 [-6,5; 11,1], через 48 часов отмечено его достоверное снижение на 9,5 [-3,8; 21,3]. Через 72 часа значение коэффициента

Э₁/андростендион незначительно повысилось, изменение по сравнению с исходным значением составило 5,9 [-6,2; 17,5].

Реакция гонадотропинов и пролактина на летрозол

При анализе содержания гонадотропинов в сыворотке крови здоровых женщин до и через 24, 48 и 72 часа после приема 10 мг ингибитора ароматазы летрозолола были выявлены достоверные отличия (таблица 5).

Таблица 5. Уровень ФСГ, ЛГ и пролактина в сыворотке крови здоровых женщин до и через 24, 48 и 72 часа после приема летрозолола (Медиана [10; 90])

Гормон	Уровень гормонов в сыворотке крови			
	до приема летрозолола	через 24 часа	через 48 часов	через 72 часа
ФСГ, МЕ/л	5,6 [4,6; 7,1]	6,9 * [5,7; 10,9]	10,2 ** [7,6; 13,3]	8,0 ** [6,0; 10,7]
ЛГ, МЕ/л	3,3 [1,5; 5,2]	5,3 * [3,1; 7,0]	7,5 ** [4,7; 9,5]	5,7 ** [3,6; 9,6]
Пролактин, мМЕ/л	323,1 [188,4; 548,7]	320,8 [170,8; 499,6]	300,0 [160,0; 560,4]	320,0 [240,7; 524,8]

Примечание: * – $p < 0,01$, ** – $p < 0,001$ по сравнению с аналогичным показателем до приема летрозолола.

Через 24 часа после приема ингибитора ароматазы летрозолола уровень ФСГ в сыворотке крови повысился на 23% ($p < 0,01$) по сравнению с исходным уровнем, через 48 часов – на 72% ($p < 0,001$), через 72 часа отмечено снижение содержания ФСГ. Изменение между содержанием ФСГ до приема летрозолола и через 72 часа составило 35% ($p < 0,001$). Анализируя содержание уровня ЛГ в сыворотке крови, отмечена аналогичная реакция на летрозол. Через 24 часа произошло повышение на 60% ($p < 0,01$), через 48 часов на 127% ($p < 0,001$). Через 72 часа также была отмечена тенденция к снижению уровня ЛГ. Изменение между содержанием ЛГ до приема летрозолола и через 72 часа составило 86% ($p < 0,001$).

Анализируя данные, представленные в таблице 6, выявлено, что максимальное повышение гонадотропинов в сыворотке крови произошло через 48 часов после приема препарата. Уровень ФСГ повысился на 4,5 [2,7; 7,1] МЕ/л ($p < 0,01$), ЛГ на 3,4 [1,5; 5,5] МЕ/л ($p < 0,01$).

Определено, что содержание пролактина в сыворотке крови на фоне приема летрозолола достоверно не изменялось (таблица 5, таблица 6).

Таблица 6. Изменение ФСГ, ЛГ и пролактина (Δ) в сыворотке крови здоровых женщин до и через 24, 48 и 72 часа после приема летрозола (Медиана [10; 90])

Гормон	Изменение гормональных показателей в сыворотке крови (Δ)		
	до приема и через 24 часа	до приема и через 48 часов	до приема и через 72 часа
ФСГ, МЕ/л	1,3 [-0,2; 4,0]	4,5* [2,7; 7,1]	2,2 [1,0; 4,4]
ЛГ, МЕ/л	1,7 [0,5; 0,3]	3,4* [1,5; 5,5]	2,3 [0,8; 5,7]
Пролактин, мМЕ/л	-4,0 [-265,9; 258,5]	-20,9 [-231,6; 163,1]	-49,1 [-190,7; 167,8]

Примечание: * – $p < 0,01$ по сравнению с аналогичным показателем через 24 часа после приема летрозола.

Реакция ССГ и АМГ на летрозол

Анализируя содержание ССГ в сыворотке крови здоровых женщин до и через 24, 48 и 72 часа после приема летрозола, достоверных изменений не выявлено (таблица 7). Отмечено незначительное снижение уровня ССГ в сыворотке крови через 24 часа на 2,0 [-3,2; 10,3] нмоль/л, через 48 часов содержание ССГ не отличалось от исходного. Изменение между исходным уровнем и через 72 часа после приема препарата составило 2,5 [-15,5; 14,8] нмоль/л (таблица 7). При расчете ИСА у здоровых женщин также не отмечено достоверных отличий (таблица 7).

Таблица 7. ССГ, ИСА и АМГ в сыворотке крови здоровых женщин до и через 24, 48 и 72 часа после приема летрозола (Медиана [10; 90])

Наименование	Уровень гормонов в сыворотке крови			
	до приема летрозола	через 24 часа	через 48 часов	через 72 часа
ССГ, нмоль/л	71,7 [36,6; 170,5]	66,8 [36,9; 160,5]	70,6 [36,0; 165,0]	70,0 [36,8; 168,0]
ИСА	2,3 [0,6; 7,1]	2,7 [0,8; 8,0]	2,9 [0,6; 6,1]	3,2 [0,7; 6,9]
АМГ, нг/мл	2,7 [1,2; 4,3]	2,7 [1,2; 4,9]	2,7 [0,9; 4,6]	2,1 [0,9; 3,5]

Оценивая динамику уровня АМГ в сыворотке крови здоровых женщин до и после приема летрозола, достоверных изменений не выявлено (таблица 7).

Учитывая тот факт, что наиболее выраженная реакция гормонов на действие ингибитора ароматазы летрозола отмечена через 48 часов после приема, в остальных группах определение содержания гормонов в сыворотке крови решено было проводить только до приема препарата и через 48 часов. Так как не отмечено реакции на летрозол пролактина, тестостерона, ССГ и АМГ, в дальнейшем их повторное определение после приема летрозола не проводилось.

Результаты пробы с летрозолом у больных НГЭ на фоне применения аГРГ и у больных с первичной овариальной недостаточностью

Для выявления источника определяемой ароматазной активности, были проанализированы изменения половых стероидных гормонов и гонадотропинов в сыворотке крови на фоне приема летрозола у женщин с отсутствующими или кратковременно «медикаментозно» заблокированными яичниками. Такими женщинами явились больные с первичной овариальной недостаточностью и женщины с НГЭ на фоне применения аГРГ.

У больных НГЭ на фоне применения аГРГ и больных с первичной овариальной недостаточностью достоверных различий между содержанием половых стероидных гормонов и гонадотропинов до и через 48 часов после приема 10 мг летрозола не отмечено (таблица 8).

Таблица 8. Реакция на летрозол больных НГЭ на фоне применения аГРГ и женщин с первичной овариальной недостаточностью до и через 48 часов после приема летрозола (Медиана [10; 90])

Исследуемая группа Гормон	Больные НГЭ на фоне применения аГРГ		Больные с первичной овариальной недостаточностью	
	до приема летрозола	после приема летрозола	до приема летрозола	после приема летрозола
Эстрадиол, пмоль/л	93,9 [84,4; 125,2]	92,9 [80,5; 111,4]	96,6 [27,0; 97,9]	84,7 [22,0; 95,8]
Эстрон, пмоль/л	275,4 [204,1; 492,0]	288,3 [176,3; 416,2]	154,3 [97,9; 415,5]	152,5 [85,7; 283,2]
Свободный тестостерон, пмоль/л	3,1 [1,1; 12,9]	2,9 [1,6; 13,4]	3,9 [1,4; 12,2]	3,6 [1,1; 9,0]
Андростендион, нмоль/л	5,5 [2,6; 7,5]	6,2 [2,8; 9,3]	6,5 [4,8; 8,9]	5,9 [4,6; 11,0]
ФСГ, МЕ/л	4,2 [2,3; 6,2]	3,8 [2,4; 8,8]	70,6 [48,8; 181,8]	77,3 [49,4; 173,8]
ЛГ, МЕ/л	0,4 [0,1; 1,0]	0,2 [0,0; 0,9]	26,2 [14,9; 52,2]	29,6 [15,1; 53,9]
17-ОНР, нмоль/л	1,1 [0,6; 1,7]	1,3 [0,7; 1,8]	1,6 [1,1; 1,7]	1,3 [0,7; 2,5]
ДГЭА-сульфат, мкмоль/л	4,9 [2,8; 8,2]	4,6 [3,2; 8,3]	6,1 [2,4; 12,6]	7,2 [3,2; 11,5]

Отмечено незначительное снижение уровня эстрадиола в сыворотке крови через 48 часов после приема летрозола. У больных с первичной овариальной недостаточностью снижение составило 5,0 [0,4; 14,2] пмоль/л, у больных НГЭ 1,8 [-3,4; 15,0] пмоль/л. Снижение эстрадиола в сыворотке крови женщин с первичной овариальной недостаточностью находится на нижней

границе референтного интервала ($4,9 \div 86,2$ пмоль/л), у больных НГЭ выходит за пределы референтного интервала.

Таким образом, у больных НГЭ, получающих терапию аГРГ, а также у больных с первичной овариальной недостаточностью реакция на ингибитор ароматазы практически отсутствовала. Это указывает на овариальный источник ароматазной активности, определяемой с помощью пробы с летрозолом.

При сравнении снижения уровня эстрадиола в сыворотке крови через 48 часов после приема летрозола (ΔE_2) у здоровых женщин, больных НГЭ на фоне применения аГРГ и женщин с первичной овариальной недостаточностью выявлены статистически достоверные отличия.

Установлено, что у здоровых женщин снижение эстрадиола ($40,4 [4,9; 86,2]$ пмоль/л) значительно более выражено ($p < 0,05$), чем у больных НГЭ на фоне применения аГРГ ($1,8 [-3,4; 15,0]$ пмоль/л) и женщин с первичной овариальной недостаточностью ($5,0 [0,4; 14,2]$ пмоль/л).

Таким образом, проба с летрозолом позволяет определять общую овариальную ароматазную активность по снижению эстрадиола в сыворотке крови (ΔE_2).

Определение ароматазной активности антральных фолликулов яичников

Между уровнем АМГ в сыворотке крови и числом антральных фолликулов в яичниках здоровых женщин имелась достоверная ($p < 0,05$) корреляция. Коэффициент корреляции составил $r_s=0,7$. Эта закономерность также была ранее обнаружена другими авторами (Houten E.L., 2010; Visser J.A., 2012). Поскольку уровень АМГ достоверно коррелирует с числом антральных фолликулов, отношение реакции эстрадиола на летрозол к уровню АМГ в сыворотке крови будет отражать ароматазную активность отдельных фолликулов:

ароматазная активность фолликула = $\Delta E_2 / \text{АМГ}$,

где ΔE_2 – снижение эстрадиола в пмоль/л в сыворотке крови через 48 часов после приема 10 мг летрозола, АМГ – содержание в крови антимюллерова гормона в нг/мл (Заявка на патент № 2013147216 от 22.10.2013 г., решение о выдаче патента на изобретение Ф. № 01ИЗ – 2013 от 05. 12. 2014г.).

Медиана ароматазной активности антральных фолликулов у здоровых женщин составляет $11,4 [2,5; 42,6]$. Границы референтного интервала коэффициента $\Delta E_2 / \text{АМГ}$ составляют: нижний предел – 2,5, верхний – 42,6.

Так как у больных НГЭ на фоне применения аГРГ и у женщин с первичной овариальной недостаточностью яичники отсутствуют или

«медикаментозно» заблокированы, ароматазная активность антральных фолликулов не определяется.

Результаты пробы с летрозолом у больных НГЭ и СПЯ

У больных НГЭ и СПЯ пероральный прием 10 мг летрозолола вызывает аналогичную реакцию гормонов в сыворотке крови, что и у здоровых женщин. Анализируя содержание половых стероидных гормонов и гонадотропинов в сыворотке крови до и через 48 часов после приема препарата, выявлены достоверные отличия (таблица 9).

Таблица 9. Реакция на летрозол больных НГЭ и СПЯ до и через 48 часов после приема летрозолола (Медиана [10; 90])

Исследуемая группа Гормон	Больные НГЭ		Больные СПЯ	
	до приема летрозолола	после приема летрозолола	до приема летрозолола	после приема летрозолола
Эстрадиол, пмоль/л	147,4 [104,8; 200,6]	106,8** [85,5; 138,2]	183,2 [120,4; 372,9]	107,9** [89,1; 191,9]
Эстрон, пмоль/л	268,4 [197,4; 606,4]	264,4* [202,7; 520,3]	348,1 [187,2; 523,5]	261,9** [152,0; 412,4]
Свободный тестостерон, пмоль/л	5,2 [1,6; 10,1]	6,1 [1,8; 13,4]	8,2 [2,1; 44,5]	9,3 [3,9; 38,9]
Андростендион, нмоль/л	5,6 [2,9; 10,6]	5,6 [3,0; 9,4]	9,6 [5,9; 14,4]	10,2 [5,8; 15,9]
ФСГ, МЕ/л	6,6 [3,5; 9,6]	10,6** [6,8; 15,7]	5,6 [2,4; 8,0]	8,4** [5,9; 10,4]
ЛГ, МЕ/л	4,1 [2,1; 7,3]	6,6** [3,7; 10,2]	7,3 [2,9; 13,2]	10,1* [2,8; 18,9]
17-ОНР, нмоль/л	1,7 [1,1; 3,8]	1,9 [1,6; 3,8]	2,6 [1,8; 4,0]	4,0** [2,3; 7,2]
ДГЭА-сульфат, мкмоль/л	5,5 [3,0; 7,7]	5,2 [3,1; 7,5]	5,9 [4,0; 12,7]	7,1 [4,0; 11,0]

Примечание: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,001$ по сравнению с аналогичным показателем до приема летрозолола.

В группе больных наружным генитальным эндометриозом отмечено снижение уровня эстрадиола через 48 часов после приема летрозолола на 30,8 [9,9; 105,8] пмоль/л ($p < 0,001$), которое достоверно не отличалось от снижения эстрадиола у здоровых женщин. Снижение эстрона через 48 часов после приема летрозолола составило 16,8 [-29,9; 98,0] пмоль/л ($p < 0,05$). Повышение содержания гонадотропинов в сыворотке крови также было достоверным. Уровень ФСГ повысился на 3,7 [2,5; 6,7] МЕ/л, уровень ЛГ на 3,3 [0,6; 4,9]

МЕ/л ($p < 0,001$). Достоверных изменений между содержанием андрогенов и 17-ОНР в сыворотке крови до и через 48 часов после перорального приема 10 мг ингибитора ароматазы летрозолола не отмечено. Ароматазная активность антральных фолликулов у больных НГЭ варьировала в широких пределах, у 4 из 21 женщины она превышала границы референтного интервала (рисунок 1).

У больных с синдромом поликистозных яичников снижение эстрадиола в сыворотке крови на фоне приема летрозолола составило 65,7 [24,6; 201,7] пмоль/л, которое также достоверно не отличалось от снижения эстрадиола у здоровых женщин. Снижение эстрона в сыворотке крови составило 70,7 [30,0; 224,8] пмоль/л ($p < 0,001$). Уровень гонадотропинов в сыворотке крови через 48 часов после приема препарата достоверно повысился (ФСГ на 2,1 [1,3; 5,0] МЕ/л, ЛГ на 1,6 [-1,8; 8,4] МЕ/л ($p < 0,05$)). Отмечено достоверное повышение содержания 17-ОНР в сыворотке крови на 1,4 [-0,4; 3,1] нмоль/л ($p < 0,001$). Достоверных изменений андрогенов в сыворотке крови на фоне приема летрозолола также не выявлено. При оценке ароматазной активности антральных фолликулов у женщин с СПЯ, выявлены значительные колебания, выходящие за пределы границ референтного интервала для здоровых женщин. При этом коэффициент $\Delta\text{Э}_2/\text{АМГ}$ был снижен у 5, повышен у 4 из 24 больных СПЯ (рисунок 1).

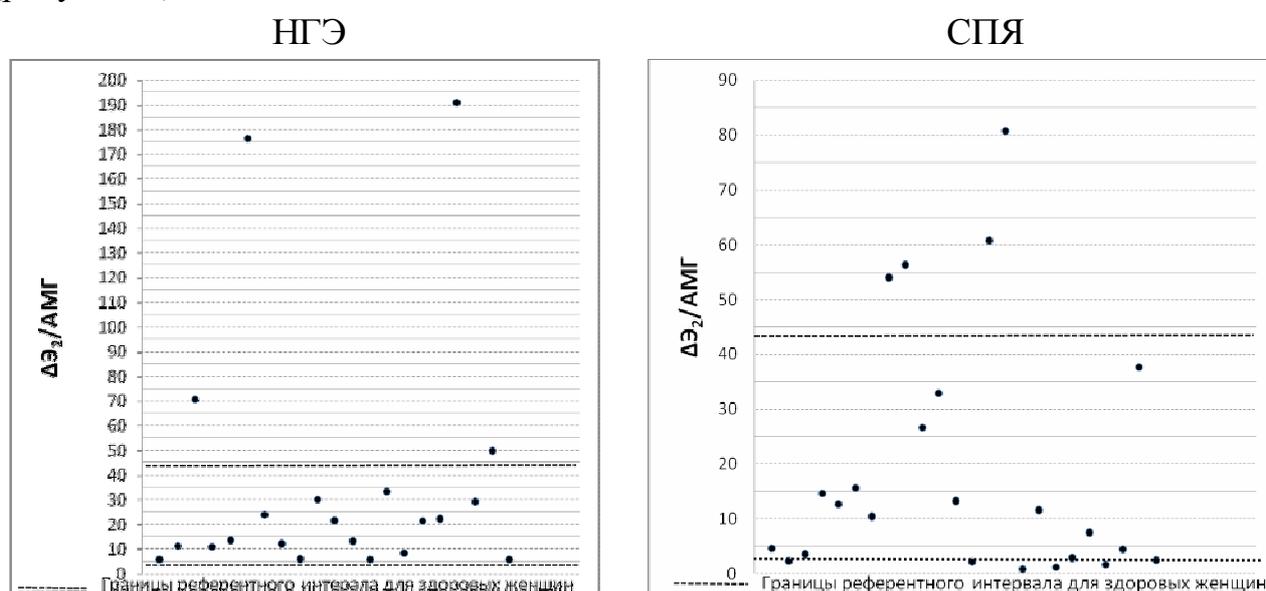


Рисунок 1. Ароматазная активность антральных фолликулов у женщин с нормогонадотропной ановуляцией, обусловленной НГЭ и СПЯ.

Таким образом, проба с летрозололом позволяет оценить как суммарную овариальную ароматазную активность (по $\Delta\text{Э}_2$), так и овариальную активность антральных фолликулов ($\Delta\text{Э}_2/\text{АМГ}$). Большая вариабельность ароматазной активности антральных фолликулов у женщин с нормогонадотропной ановуляцией, обусловленной эндометриозом и синдромом поликистозных

яичников, позволяет думать, что эффективность лечебного применения ингибиторов ароматазы может быть связана с исходной ароматазной активностью.

ВЫВОДЫ

1. Пероральный прием 10 мг ингибитора ароматазы летрозола вызывает у здоровых женщин достоверное снижение эстрадиола и эстрона в сыворотке крови. Максимальное снижение эстрогенов приходится на 48 часов после приема препарата и составляет для эстрадиола 30%, для эстрона 17,4%. Границы референтного интервала реакции эстрадиола крови на летрозол у здоровых женщин составляют: нижняя 4,9 пмоль/л, верхняя 86,2 пмоль/л.

2. Прием летрозола вызывает у здоровых женщин достоверное повышение уровня 17-гидроксипрогестерона и существенно не влияет на уровень андрогенов (тестостерон, свободный тестостерон, андростендион) в сыворотке крови.

3. Обусловленное приемом летрозола снижение эстрадиола вызывает достоверное повышение гонадотропинов в сыворотке крови здоровых женщин. Через 48 часов после приема летрозола уровень ФСГ повышается на 72%, уровень ЛГ на 127%.

4. Изменение уровня эстрадиола после приема летрозола отражает активность овариальной ароматазы, так как у больных эндометриозом на фоне применения аГРГ и у больных с первичной недостаточностью яичников реакция на ингибитор ароматазы, практически, отсутствует.

5. Уровень АМГ в сыворотке крови достоверно коррелирует с числом антральных фолликулов в яичниках здоровых женщин. Поэтому отношение реакции эстрадиола на летрозол к уровню АМГ ($\Delta E_2/AMG$) отражает ароматазную активность антральных фолликулов. У здоровых женщин границы референтного интервала коэффициента $\Delta E_2/AMG$ составляют от 2,5 до 42,6.

6. У больных с нормогонадотропной ановуляцией, обусловленной наружным генитальным эндометриозом и синдромом поликистозных яичников, ароматазная активность антральных фолликулов находится в широких пределах, что может отражаться на эффективности лечебного применения ингибиторов ароматазы.

7. Проба с пероральным приемом 10 мг ингибитора ароматазы летрозола позволяет количественно оценивать как суммарную овариальную ароматазную активность (по ΔE_2), так и овариальную активность антральных фолликулов (по $\Delta E_2/AMG$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Для оценки ароматазной активности яичников рекомендуется врачам акушерам-гинекологам, эндокринологам многопрофильных стационаров и

женских консультаций определять эстрадиол в сыворотке крови до и через 48 часов после перорального приема 10 мг летрозола. Тест проводится на 2-й день менструального цикла. Степень снижения эстрадиола в сыворотке крови (ΔE_2) отражает ароматазную активность яичников. При значениях ΔE_2 ниже 4,9 пмоль/л определяется низкая ароматазная активность, при значениях ΔE_2 более 86,2 пмоль/л – высокая ароматазная активность.

Для оценки ароматазной активности овариальных фолликулов снижение эстрадиола (ΔE_2) следует поделить на значение АМГ. Фолликулярная ароматазная активность снижена при ΔE_2 /АМГ менее 2,5, повышена при ΔE_2 /АМГ более 42,6.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Перспективы диссертационной работы заключаются в возможности использования разработанного метода определения активности овариальной ароматазы у женщин с эстрогензависимыми заболеваниями и отдельными формами овариальной недостаточности для выявления роли ароматазы в патогенезе этих заболеваний и оптимизации терапии таких больных. Дальнейшие исследования должны быть направлены на изучение овариальной ароматазной активности у женщин с различными вариантами недостаточности яичников, выявление общих закономерностей колебаний активности ароматазы у женщин с одинаковой патологией органов репродуктивной системы.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных журналах и изданиях, входящих в перечень рецензируемых российских научных журналов для опубликования основных научных результатов диссертации.

1. Тимофеева, Е.М. Методика определения овариальной ароматазной активности у женщин репродуктивного возраста / Е.М. Тимофеева, В.В. Потин, М.И. Ярмолинская // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2014. – Т. 2, № 46. – С. 58-62.
2. Денисова, В.М. Активность овариальной ароматазы при эндометриозе / В.М. Денисова, В.В. Потин, М.И. Ярмолинская, Е.М. Тимофеева // Журнал акушерства и женских болезней. – 2013. – Т. LXII, вып. 2. – С.17-22.
3. Николаенков, И.П. Активность овариальной ароматазы у больных синдромом поликистозных яичников / И.П. Николаенков, В.В. Потин, М.А. Тарасова, М.И. Ярмолинская, Н.Н. Ткаченко, Я.А. Самойлович, Е.М. Тимофеева // Журнал акушерства и женских болезней. – 2014. – Т. LXIII, вып. 1. – С.10-16.
4. Потин, В.В. Способ оценки овариальной ароматазной активности / В.В. Потин, М.А. Тарасова, М.И. Ярмолинская, В.М. Денисова, И.П. Николаенков,

Е.М. Тимофеева // Патент на изобретение. Заявка № 2013147216 от 22.10.2013 г., решение о выдаче патента на изобретение Ф. № 01ИЗ – 2013 от 05. 12. 2014г.

Научные издания, статьи, тезисы докладов и статей

5. Денисова, В.М. Определение овариальной ароматазной активности у больных наружным генитальным эндометриозом / В.М. Денисова, **Е.М. Тимофеева** // Репродуктивная медицина: взгляд молодых – 2013: материалы IV ежегодной научной конференции молодых ученых и специалистов. – СПб., 2013. – С. 22-24.

6. Николаенков, И.П. Абсолютный и относительный дефицит овариальной ароматазы в патогенезе синдрома поликистозных яичников / И.П. Николаенков, В.В. Потин, М.А. Тарасова, В.В. Рулев, Я.А. Самойлович, **Е.М. Тимофеева** // Бюллетень Федерального центра сердца, крови, эндокринологии им. В.А. Алмазова. – 2013. – прилож. 2. – Тезисы VIII междисциплинарной конференции по акушерству, перинатологии, неонатологии «Здоровая женщина – здоровый новорожденный». – С. 61.

7. Самойлович, Я.А. Дефицит ароматазы в патогенезе нормогонадотропной недостаточности яичников / Я.А. Самойлович, В.В. Потин, М.А. Тарасова, М.И. Ярмолинская, И.П. Николаенков, **Е.М. Тимофеева** // Бюллетень Федерального центра сердца, крови, эндокринологии им. В.А. Алмазова. – 2013. – прилож. 2. – Тезисы VIII междисциплинарной конференции по акушерству, перинатологии, неонатологии «Здоровая женщина – здоровый новорожденный». – С. 75.

8. Самойлович, Я.А. Активность овариальной ароматазы в патогенезе нормогонадотропной недостаточности яичников / Я.А. Самойлович, В.В. Потин, М.А. Тарасова, **Е.М. Тимофеева**, Н.Ю. Швед, М.И. Ярмолинская // Материалы VII регионального научного форума «Мать и дитя» и Пленума Российского общества акушеров-гинекологов. – Геленджик, 2014. – С. 271-272.

9. Тимофеева, Е.М. Метод определения ароматазной активности яичников / Е.М. Тимофеева // Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины – 2014: тезисы LXXV научно-практической конференции. – СПб., – С. 9.

10. Тимофеева, Е.М. Реакция эстрадиола на прием ингибитора ароматазы летрозолола / Е.М. Тимофеева, В.В. Потин, М.И. Ярмолинская // Современные технологии акушерства и гинекологии в решении проблем демографической безопасности: материалы VI Российско-Германского конгресса по акушерству и гинекологии. – Калининград, 2014. – С. 18-19.